

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERS DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION  
(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents  
 United States Patent and Trademark  
 Office  
 Box PCT  
 Washington, D.C.20231  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

|   |  |
|---|--|
| Date d'expédition (jour/mois/année)<br>27 mars 2000 (27.03.00)                |  |
| Demande internationale no<br>PCT/FR99/02191                                   | Référence du dossier du déposant ou du mandataire<br>B13134.3MDT   |
| Date du dépôt international (jour/mois/année)<br>15 septembre 1999 (15.09.99) | Date de priorité (jour/mois/année)<br>16 septembre 1998 (16.09.98) |
| Déposant<br>CAILLAT, Patrice etc  |  |

## 1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

02 mars 2000 (02.03.00)

dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

---

2. L'élection  a été faite n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

|  |  |
|--|--|
| Bureau international de l'OMPI<br>34, chemin des Colombettes<br>1211 Genève 20, Suisse | Fonctionnaire autorisé<br>Antonia Muller |
| no de télécopieur: (41-22) 740.14.35   | no de téléphone: (41-22) 338.83.38       |

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

**NOTIFICATION RELATIVE  
A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION  
DU DOCUMENT DE PRIORITE**  
(instruction administrative 411 du PCT)

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

DES TERMES, Monique  
Brevatome  
3, rue du Docteur Lancereaux  
F-75008 Paris  
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année)  
05 octobre 1999 (05.10.99)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
B13134.3MDT

Demande internationale no  
PCT/FR99/02191

Date de publication internationale (jour/mois/année)  
Pas encore publiée

**NOTIFICATION IMPORTANTE**

Date du dépôt international (jour/mois/année)  
15 septembre 1999 (15.09.99)

Date de priorité (jour/mois/année)  
16 septembre 1998 (16.09.98)

Déposant

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE etc

- La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du document de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, ou les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
- Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
- Un astérisque(\*) figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
- Les lettres "NR" figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

Date de prioritéDemande de priorité n°Pays, office régional ou  
office récepteur selon le PCTDate de réception du  
document de priorité

16 sept 1998 (16.09.98) 98/11561

FR

27 sept 1999 (27.09.99)

Bureau international de l'OMPI  
34, chemin des Colombettes  
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

Yolaine CUSSAC

no de téléphone (41-22) 338.83.38

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

**AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA  
COMMUNICATION DE LA DEMANDE  
INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES**

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

DES TERMES, Monique

Brevatome

3, rue du Docteur Lancereaux

F-75008 Paris

FRANCE

BREVATOME

31 MAR. 2000

3, rue du Docteur Lancereaux  
75008 PARIS

AVIS IMPORTANT

|  |   |  |
|--|---|--|
| Date d'expédition (jour/mois/année)<br>23 mars 2000 (23.03.00)   |   |  |
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire<br>B13134.3MDT |   |  |
| Demande internationale no<br>PCT/FR99/02191                      | Date du dépôt international (jour/mois/année)<br>15 septembre 1999 (15.09.99) | Date de priorité (jour/mois/année)<br>16 septembre 1998 (16.09.98) |
| Déposant<br>COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE etc                |   |  |

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:  
JP,US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:  
EP

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1)a-bis)).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 23 mars 2000 (23.03.00) sous le numéro WO 00/16082

**RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)**

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

**RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))**

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

|   |   |
|---|---|
| Bur au international de l'OMPI<br>34, ch min des Colombettes<br>1211 Genève 20, Suisse<br>no de télecopieur (41-22) 740.14.35 | Fonctionnaire autorisé<br>J. Zahra<br>no de téléphone (41-22) 338.83.38 |
|---|---|

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

|   |  |  |  |
|---|--|--|--|
| (51) Classification internationale des brevets <sup>7</sup> :<br><b>G01N 27/327, 33/543, C12Q 1/00</b>  |  | A1   | (11) Numéro de publication internationale: <b>WO 00/16082</b>    |
|   |  |  | (43) Date de publication internationale: 23 mars 2000 (23.03.00) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/02191  |  | (81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). |  |
| (22) Date de dépôt international: 15 septembre 1999 (15.09.99)  |  |  |  |
| (30) Données relatives à la priorité:<br>98/11561 16 septembre 1998 (16.09.98) FR<br><i>16 Sept 01/30 m/s</i>   |  | Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>   |  |
| (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): COMMIS-SARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75015 Paris (FR).  |  |  |  |
| (72) Inventeurs; et   |  |  |  |
| (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): CAILLAT, Patrice [FR/FR]; 10, rue de Provence, F-38130 Echirolles (FR). ROSILIO, Charles [FR/FR]; 16, allée de la Pommeraie, F-91190 Gif-sur-Yvette (FR). |  |  |  |
| (74) Mandataire: DES TERMES, Monique; Brevatome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).  |  |  |  |

(54) Title: DEVICE COMPRISING A PLURALITY OF ANALYSIS SITES ON A SUPPORT

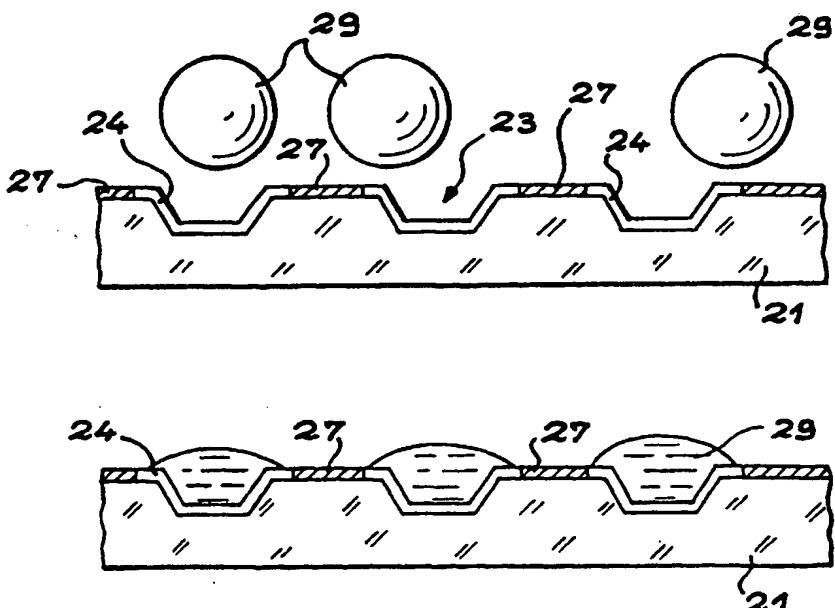
(54) Titre: DISPOSITIF COMPRENANT UNE PLURALITE DE SITES D'ANALYSE SUR UN SUPPORT

## (57) Abstract

The invention concerns a device for chemical or biological analysis comprising a support (21) including a plurality of sites for fixing a chemical or biological reagent, wherein the analysis sites are formed by microwells (23) lying recessed in the support, the side walls and the base of said microwells and the support surface zones enclosing each microwell, called microwell rims, being produced in at least a hydrophile material (24), and the support planar zones arranged between the zones enclosing the microwells being produced in a hydrophobic material (27). The drops (29) of reagent are thus guided into the microwells (23) owing to the presence of the hydrophobic zones (27), thereby increasing the number of analysis sites on the support.

## (57) Abrégé

L'invention a pour objet un dispositif d'analyse chimique ou biologique comprenant un support (21) comportant une pluralité de sites d'analyse aptes à fixer un réactif chimique ou biologique, dans lequel les sites d'analyse sont constitués par des microcuvettes (23) s'étendant en creux dans le support, les parois latérales et le fond des microcuvettes et les zones de la surface du support entourant chaque microcuvette, dénommées bords de microcuvettes, étant réalisées en au moins un matériau hydrophile (24), et les zones planes du support disposées entre les zones entourant les microcuvettes étant réalisées en un matériau hydrophobe (27). Les gouttes (29) de réactif sont ainsi guidées dans les microcuvettes (23) en raison des zones hydrophobes (27). On peut augmenter ainsi la densité de sites d'analyse sur le support.



**UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

|    |                           |    |   |    |  |    |                       |
|----|---------------------------|----|---|----|--|----|-----------------------|
| AL | Albanie                   | ES | Espagne                                       | LS | Lesotho                                  | SI | Slovénie              |
| AM | Arménie                   | FI | Finlande                                      | LT | Lituanie                                 | SK | Slovaquie             |
| AT | Autriche                  | FR | France  | LU | Luxembourg                               | SN | Sénégal               |
| AU | Australie                 | GA | Gabon   | LV | Lettonie                                 | SZ | Swaziland             |
| AZ | Azerbaïdjan               | GB | Royaume-Uni                                   | MC | Monaco                                   | TD | Tchad                 |
| BA | Bosnie-Herzégovine        | GE | Géorgie                                       | MD | République de Moldova                    | TG | Togo                  |
| BB | Barbade                   | GH | Ghana   | MG | Madagascar                               | TJ | Tadjikistan           |
| BE | Belgique                  | GN | Guinée  | MK | Ex-République yougoslave<br>de Macédoine | TM | Turkménistan          |
| BF | Burkina Faso              | GR | Grèce   | ML | Mali                                     | TR | Turquie               |
| BG | Bulgarie                  | HU | Hongrie                                       | MN | Mongolie                                 | TT | Trinité-et-Tobago     |
| BJ | Bénin                     | IE | Irlande                                       | MR | Mauritanie                               | UA | Ukraine               |
| BR | Brésil                    | IL | Israël  | MW | Malawi                                   | UG | Ouganda               |
| BY | Bélarus                   | IS | Islande                                       | MX | Mexique                                  | US | Etats-Unis d'Amérique |
| CA | Canada                    | IT | Italie  | NE | Niger                                    | UZ | Ouzbékistan           |
| CF | République centrafricaine | JP | Japon   | NL | Pays-Bas                                 | VN | Viet Nam              |
| CG | Congo                     | KE | Kenya   | NO | Norvège                                  | YU | Yougoslavie           |
| CH | Suisse                    | KG | Kirghizistan                                  | NZ | Nouvelle-Zélande                         | ZW | Zimbabwe              |
| CI | Côte d'Ivoire             | KP | République populaire<br>démocratique de Corée | PL | Pologne                                  |    |                       |
| CM | Cameroun                  | KR | République de Corée                           | PT | Portugal                                 |    |                       |
| CN | Chine                     | KZ | Kazakhstan                                    | RO | Roumanie                                 |    |                       |
| CU | Cuba                      | LC | Sainte-Lucie                                  | RU | Fédération de Russie                     |    |                       |
| CZ | République tchèque        | LI | Liechtenstein                                 | SD | Soudan                                   |    |                       |
| DE | Allemagne                 | LK | Sri Lanka                                     | SE | Suède                                    |    |                       |
| DK | Danemark                  | LR | Libéria                                       | SG | Singapour                                |    |                       |
| EE | Estonie                   |    |   |    |  |    |                       |

## DISPOSITIF COMPRENANT UNE PLURALITE DE SITES D'ANALYSE SUR UN SUPPORT

5

## DESCRIPTION

**Domaine technique**

La présente invention a pour objet un dispositif d'analyse chimique ou biologique, comprenant un grand nombre de sites d'analyse, utilisable en particulier pour le screening en pharmacologie et pour des tests ADN en biologie.

Dans le cadre du screening, il faut déterminer sur un support comportant un grand nombre de sites recouverts du même réactif, l'effet de différentes molécules que l'on dépose sélectivement sur chaque site de façon séquentielle.

Dans le cas des tests en biologie tels que les tests ADN, chaque site du dispositif est recouvert d'une sonde ADN différente et l'analyte dont on veut connaître la séquence génomique, est mis en contact au moment de l'analyse avec l'ensemble des sites.

En chimie analytique, la demande est également forte vers la miniaturisation des cuvettes de réactions chimiques (ou réacteurs chimiques).

Pour toutes ces applications, il est donc important de disposer d'un support comportant le plus grand nombre possible de sites d'analyse, mais une densification élevée du nombre de sites pose certains problèmes pour obtenir la précision suffisante lors du

dépôt des gouttes de réactif ou d'échantillons sur les sites.

#### **Etat de la technique antérieure**

Le document US-A-5 474 796 [1] décrit un 5 dispositif comportant plusieurs sites d'analyse sur la surface d'un support, dans lequel les sites d'analyse sont formés par des zones hydrophiles séparées par des zones hydrophobes sur un support plan.

La figure 1 annexée représente la structure 10 de ce dispositif avec son support plan 1, sur lequel sont définies les zones hydrophiles 3 et les zones hydrophobes 5.

Ces zones hydrophiles et hydrophobes sont 15 réalisées sur le support 1 par photomasquage, puis réaction d'un silane hydrophile ou hydrophobe avec le support en verre.

Dans ce cas, les zones hydrophiles 3 constituées par des zones planes obligent les gouttes de réactifs 7 déposées à rester là où elles 20 sont en raison de la présence des zones hydrophobes adjacentes 5.

Une limitation importante de ce dispositif est due au fait que les dispenseurs de réactifs ne 25 permettent pas de réduire la taille de la goutte 7 de façon infinie.

Aussi, lorsqu'on veut augmenter 30 l'intégration et densifier le nombre de sites sur le support, par exemple, passer à un pas inférieur à 300  $\mu\text{m}$ , c'est la résolution du dispenseur qui limite actuellement le système car on pourrait très bien avec les procédés de lithographie restreindre la surface des

zones hydrophiles et hydrophobes pour augmenter la densités de sites.

Un autre paramètre important du dispositif est la surface utile du site car le réactif, par exemple la sonde ADN, est amené sur le site dans une solution qui est séchée sur le site. Aussi, si la surface utile du site est réduite, la quantité de réactif après séchage devient très faible.

Enfin, la manipulation du support comportant en surface les gouttes déposées est délicate.

La présente invention a précisément pour objet un dispositif d'analyse chimique ou biologique, qui permet d'augmenter l'intégration et la densification du nombre de sites sur un support, tout en utilisant les dispenseurs actuels qui en standard ne permettent pas d'avoir des gouttes de taille inférieure à 50 à 1000 picolitres avec une bonne précision spatiale de dépôt.

## 20 **Exposé de l'invention**

L'invention a pour objet un dispositif d'analyse chimique ou biologique comprenant un support comportant une pluralité de sites d'analyse aptes à fixer un réactif chimique ou biologique, dans lequel les sites d'analyse sont constitués par des microcuvettes s'étendant en creux dans le support, les parois latérales et le fond des microcuvettes et les zones de la surface du support entourant chaque microcuvette, dénommées bords de microcuvettes, étant réalisés en au moins un matériau hydrophile ou rendu hydrophile par un traitement, et les zones planes du

support disposées entre les zones entourant les microcuvettes étant réalisées en un matériau hydrophobe ou rendu hydrophobe par un traitement.

On précise que dans la description et les 5 revendications qui suivent, les termes "matériau hydrophile" signifient que le matériau est hydrophile ou qu'il a été rendu hydrophile par un traitement.

De même, les termes "matériau hydrophobe" signifient que le matériau est hydrophobe 10 ou qu'il a été rendu hydrophobe par un traitement.

Dans ce dispositif, les microcuvettes peuvent avoir en particulier la forme d'un tronc de cône dont la petite base correspond au fond de la microcuvette.

15 Dans ce dispositif, le fait de disposer de microcuvettes réalisées en matériau hydrophile avec des zones entourant les microcuvettes, ou bords, également en matériau hydrophile, séparées en surface par un matériau hydrophobe, permet d'assurer une zone 20 d'ancrage des gouttes dans l'épaisseur du support, en limitant ainsi le diamètre des sites d'analyse sans restreindre le volume des gouttes. On peut atteindre ainsi une densification de sites actifs plus élevée que dans le cas du support plan de l'art antérieur.

25 Ainsi, la structure de l'invention procure deux avantages intéressants :

- 1) elle permet l'utilisation de dispenseurs de gouttellettes de résolution limitée, et
- 2) elle permet l'utilisation de gouttellettes de 30 diamètre plus grand que celui des microcuvettes permettant une concentration plus importante du soluté, après évaporation du solvant.

Selon un premier mode de réalisation du dispositif de l'invention, les parois latérales, les fonds et les bords des microcuvettes sont réalisés en le même matériau hydrophile. Ceci permet en particulier 5 d'assurer le recentrage et l'ancrage des gouttes de réactifs dans le microcuvettes ainsi que sur le bord des microcuvettes lorsque la goutte déborde de la microcuvette.

Selon un second mode de réalisation du 10 dispositif de l'invention, les fonds des microcuvettes sont réalisés en un premier matériau hydrophile et au moins une partie des parois latérales des microcuvettes ainsi que les bords des microcuvettes sont réalisés en un second matériau hydrophile, seul le premier matériau 15 hydrophile étant apte à fixer le réactif chimique ou biologique.

Cette structure particulière permet 20 d'attirer la goutte dans la microcuvette au moyen du second matériau hydrophile et d'assurer la fixation du réactif dans le fond de la microcuvette par l'intermédiaire du premier matériau hydrophile. Cette disposition est particulièrement intéressante lorsque 25 le réactif est dilué dans une solution aqueuse. La réalisation de microcuvettes permet aussi également d'observer à l'étape d'analyse une fluorescence dans un plan différent du plan du substrat qui souvent génère un signal parasite (fluorescence) intrinsèque à la nature du substrat.

Ainsi, la goutte de solution aqueuse 30 mouillera le second matériau hydrophile mais le réactif présent en faible quantité sera fixé sur le fond de la microcuvette.

Selon l'invention, le support du dispositif peut être un support passif en verre, en silicium ou en polymère organique, n'ayant pas de fonction particulière. On peut aussi utiliser dans l'invention 5 un support comprenant un substrat actif à système électronique intégré ayant diverses fonctions électroniques, par exemple d'adressage des sites, de chauffage localisé ou de CCD pour la détection intégrée de fluorescence.

10 Un substrat actif de ce type est décrit par exemple dans le document Eggers et al, A versatile biochip for gene-based diagnostics, 1996, IEEE, p. 87-92 [2]. Dans le cas de tels supports, le substrat actif est généralement recouvert d'une couche de polymère 15 dans laquelle sont formées les microcuvettes.

Dans le dispositif de l'invention le(s) matériau(x) hydrophile(s) peuvent être des matériaux comportant des groupes hydrophiles choisis parmi les groupements époxy, -OH, -SH, -NH-, -NH<sub>2</sub> et -COOH.

20 Le matériau hydrophobe peut être constitué par le support lui-même dans le cas d'un support en polymère organique hydrophobe ou être formé sur le support. Généralement, le matériau hydrophobe comporte des groupes hydrocarbonés ou fluorocarbonés.

25 Le matériau de base utilisé, verre ou silicium, peut être rendu sélectivement hydrophile ou hydrophobe par un traitement de surface approprié.

30 L'invention a encore pour objet un procédé de fabrication d'un dispositif d'analyse chimique ou biologique tel que décrit ci-dessus.

Selon un premier mode de réalisation, ce procédé comprend les étapes suivantes :

- a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes (ou micropuits ou microcavités),
- b) définir les zones de la surface du support devant comporter un matériau hydrophobe, et
- 5 c) former ensuite un matériau hydrophile sur les zones de la surface du support et des microcuvettes ne comportant pas de matériau hydrophobe.

10 Selon une variante de mise en oeuvre de ce premier mode de réalisation, le procédé comprend les étapes suivantes :

- a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes, et
- b) former un matériau hydrophile sur les zones de la surface du support devant comporter un matériau 15 hydrophile.

15 Les procédés décrits ci-dessus sont adaptés à la réalisation de microcuvettes dont les parois latérales, les fonds et les bords sont réalisés en le même matériau hydrophile.

20 Selon un second mode de réalisation du procédé de l'invention adapté à la formation des microcuvettes comportant deux matériaux hydrophiles différents, le procédé comprend avantageusement les étapes suivantes :

- 25 a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes,
- b) définir les zones de la surface du support devant comporter un matériau hydrophobe,
- c) définir ensuite sur la surface du support ne 30 comportant pas de matériau hydrophobe et sur la surface des microcuvettes, des premières zones correspondant aux emplacements du premier matériau hydrophile et des

secondes zones correspondant aux emplacements du second matériau hydrophile, et

5 e) former le premier matériau hydrophile sur les premières zones et le second matériau hydrophile sur les secondes zones.

Lorsque le support est en un matériau non hydrophobe, le procédé comprend de plus une étape complémentaire de formation d'un matériau hydrophobe sur les zones de la surface du support devant comporter 10 un matériau hydrophobe.

Pour mettre en oeuvre le procédé de l'invention, on commence tout d'abord par creuser des microcuvettes dans l'épaisseur du support. Des techniques classiques de lithographie suivies de 15 gravure sèche ou de gravure chimique peuvent être utilisées pour cette opération.

Lorsque le support est en silicium, on peut réaliser les microcuvettes par gravure chimique préférentielle des plans cristallins, ce qui permet 20 d'obtenir une microcuvette avec un flanc à 54 ° et un fond plat. Le pas des microcuvettes peut aller de 10 à 500 µm et la profondeur des microcuvettes peut être de 5 à 500 µm. On utilise généralement un procédé lithographique pour définir les microcuvettes aux 25 endroits voulus.

Dans le cas d'un support en verre, on peut réaliser les microcuvettes par gravure sèche isotrope, sans angles, en utilisant également un procédé lithographique pour définir l'emplacement des 30 microcuvettes.

Dans le cas où le support comprend un substrat actif à fonction électronique, le support est de préférence muni sur sa surface supérieure d'une

couche de polymère ou d'oxyde minéral dans laquelle on réalise les microcuvettes par gravure, en utilisant également un procédé lithographique pour définir l'emplacement des microcuvettes.

5           Dans tous les cas, on peut obtenir des microcuvettes de 5 à 500 µm de profondeur, avec un pas de microcuvettes de 10 à 500 µm, et une ouverture supérieur de microcuvette de 3 à 450 µm.

10          Les étapes suivantes du procédé consistent à former sur la surface du support les zones de matériau hydrophobe et les zones de matériau(x) hydrophile(s).

15          Ces zones peuvent être formées en modifiant la surface du support par greffage de groupes hydrophobes ou hydrophiles.

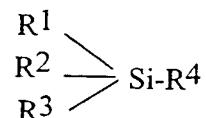
20          Toutefois, dans le cas où le support est en polymère organique hydrophobe ou recouvert de polymère organique hydrophobe, il n'est pas nécessaire de modifier la surface du support pour créer les zones hydrophobes.

              Lorsque le support est en silicium ou en verre, on peut réaliser cette modification en faisant réagir le silicium ou le verre avec un agent de silanisation hydrophobe ou hydrophile.

25          Dans le cas où le support est en silicium, on le soumet préalablement à une oxydation puis à un traitement classique de nettoyage (ex : HCl) pour disposer de groupements OH en surface permettant la réaction avec l'agent de silanisation.

30          L'agent de silanisation hydrophobe peut être un silane de formule :

10



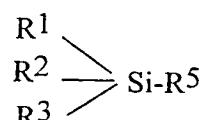
5 dans laquelle  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  et  $\text{R}^3$  qui peuvent être identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes alkoxy en  $\text{C}_1$  à  $\text{C}_3$  et les atomes d'halogènes (de préférence le chlore), et  $\text{R}^4$  est un groupe hydrocarboné ou fluorocarboné, linéaire ou ramifié.

De préférence, le groupe hydrocarboné ou fluorocarboné comprend de 4 à 18 atomes de carbone.

10 A titre d'exemples d'agent de silanisation hydrophobe, on peut citer les composés suivants :

- un produit commercial dénommé "Repelsilane",
- l'octadécylique trichlorosilane,
- l'octadécylique triéthoxysilane,
- 15 - le tridécafluoro-1,1,2,2-tétrahydrooctyldiméthyl chlorosilane,
- le 3-(1,1-dihydroperfluorooctyloxy) propyltriéthoxysilane,
- l'hexaméthyl disilazane (HMDS).

20 L'agent de silanisation hydrophile, peut être constitué par un silane de formule :



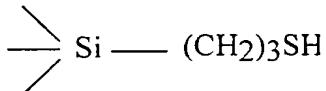
25 dans laquelle  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  et  $\text{R}^3$  qui peuvent être identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes alkoxy en  $\text{C}_1$  à  $\text{C}_3$  et les atomes d'halogène, de préférence le chlore, et  $\text{R}^5$  est un groupe hydrocarboné, linéaire ou ramifié, comportant au moins un groupe hydrophile

choisi parmi les groupes époxy, -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>, -NH- et -COOH.

Le groupe hydrocarboné comprend avantageusement 3 à 18 atomes de carbone.

5 A titre d'exemples d'agent de silanisation hydrophile, on peut citer les composés suivants :

- l'aminopropyl triméthoxysilane "γ APS",
- la triméthoxysilylpropyl-diéthylènetriamine "DETA",
- 10 - le N-(2-aminoéthyl)-3-aminopropyltriméthoxy-silane "EDA",
- le N,N-bis(hydroxyéthyl)aminopropyltriéthoxy-silane,
- le produit commercial "Bind Silane",
- 15 - l'aminoéthylaminométhyl phénétyl triméthoxysilane "PEDEA" ou encore le mercaptopropyltriméthoxysilane



On peut aussi former le matériau hydrophobe et/ou le matériau hydrophile sur le support en 20 utilisant pour l'introduction des groupes hydrophiles ou hydrophobes, des thiols ou des disulfures. Dans ce cas, on dépose tout d'abord sur les zones à modifier une couche métallique en or, en argent, en cuivre ou en 25 l'un de leurs alliages, puis on fait réagir cette couche avec un thiol ou un disulfure comportant un ou plusieurs groupes hydrophiles ou hydrophobes. Comme précédemment, les groupes hydrophobes peuvent être des groupes hydrocarbonés ou fluorocarbonés, linéaires ou ramifiés. Les groupes hydrophiles peuvent être choisis 30 parmi les groupes époxy, -OH, -NH-, -NH<sub>2</sub>, -COOH et -SH.

Pour fonctionnaliser Au, Ag, Cu, à titre de thiols et de disulfures utilisables, on peut citer les composés suivants :

- l'octadécane thiol, R-SH (R=C<sub>8</sub> à C<sub>18</sub>), hydrophobe
- 5 - l'hexadécane thiol,
- le 3-mercaptopropionic acide→hydrophile (pour rendre l'or hydrophile).

Selon le procédé de l'invention, les zones de matériau(x) hydrophile(s) ou rendu(s) hydrophile(s) et les zones de matériau hydrophobe ou rendu hydrophobe peuvent être définies sur le support par les techniques classiques de la micro-électronique, en utilisant par exemple des procédés lithographiques employant des photorésists négatifs ou positifs, avec un niveau de masquage et des développements de résine. Les zones développées sont traitées puis on enlève la résine et on traite les zones mises à nu par un autre agent de silanisation.

20 Ainsi, selon l'invention, on peut former les zones hydrophiles et hydrophobes sur le support par des procédés de gravure, en traitant par exemple toute la surface du support pour le rendre hydrophile ou hydrophobe, et en éliminant ensuite le matériau 25 hydrophile ou hydrophobe sur certaines zones du support, par exemple au moyen d'un laser. Les zones mises à nu peuvent ensuite être traitées pour former les zones hydrophobes ou hydrophiles voulues.

D'autres caractéristiques et avantages de 30 l'invention apparaîtront mieux à la lecture de la description qui suit, donnée bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux dessins annexés.

**Brève description des dessins**

La figure 1 déjà décrite illustre schématiquement un dispositif conforme à l'art antérieur.

La figure 2 illustre le premier mode de réalisation du dispositif de l'invention.

La figure 3 illustre le deuxième mode de réalisation du dispositif de l'invention.

Les figures 4A et 4B illustrent la mise en place de goutte de réactif dans un dispositif conforme à l'invention.

Les figures 5 à 7 illustrent l'intérêt du second mode de réalisation du dispositif de l'invention pour accrocher le réactif biologique au fond de la microcuvette.

Les figures 8A à 8E illustrent les différentes étapes du procédé de fabrication du dispositif de l'invention, lorsqu'on utilise une silanisation pour la réalisation des zones hydrophobes et hydrophiles.

Les figures 9A à 9D illustrent les différentes étapes du procédé de fabrication d'un dispositif conforme à l'invention utilisant des thiols pour former les zones hydrophiles et hydrophobes.

Les figures 10A à 10C illustrent les étapes du procédé de fabrication d'un dispositif de l'invention utilisant un substrat actif à fonction électronique, recouvert d'une couche de polymère hydrophobe.

Les figures 11A à 11G illustrent les différentes étapes du procédé de fabrication d'un

dispositif conforme au second mode de réalisation de l'invention.

#### **Exposé détaillé des modes de réalisation**

5

Sur la figure 2, on a illustré le premier mode de réalisation du dispositif de l'invention, dans lequel on utilise un seul matériau hydrophile.

Sur cette figure, on voit le support 21 dans lequel sont creusées les microcuvettes 23 qui ont une forme tronconique dont la petite base correspond au fond 24 de la microcuvette. Dans le premier mode de réalisation de l'invention, les fonds 24, les parois latérales 25 et les zones de la surface du support 10 entourant chaque microcuvette, dénommées ci-après bords des microcuvettes 26, sont constitués de matériau hydrophile, alors que la surface du support située 15 entre les bords des microcuvettes est constituée de matériau hydrophobe 27.

20 La figure 3 représente de façon schématique le second mode de réalisation du dispositif de l'invention, dans lequel on utilise deux matériaux hydrophiles différents.

Sur cette figure, on a repris les mêmes 25 références pour désigner le support 21, les microcuvettes 23 et les zones de matériau hydrophobe 27. Dans ce cas, les fonds des microcuvettes 24 et une partie de leurs parois latérales 25a sont réalisés en 30 un premier matériau hydrophile alors que le reste de leur parois latérales 25b et les bords 26 sont réalisés en un second matériau hydrophile. Ceci permet, comme on le verra ci-après de réaliser l'accrochage du réactif chimique ou biologique au fond des microcuvettes.

Dans ces deux modes de réalisation du dispositif de l'invention, la structuration tridimensionnelle du support permet d'obtenir de nombreux avantages.

5 En effet, cette structuration permet de limiter la surface des sites réactifs correspondant à l'ouverture des microcuvettes, puisque celles-ci sont creusées dans l'épaisseur du support et peuvent contenir davantage de réactif ou d'échantillon pour une  
10 surface utile plus petite.

Ainsi, on peut diminuer le pas et la taille des microcuvettes à des dimensions microniques sans être limité, d'une part, par la précision de positionnement du robot dispenseur de réactifs ou  
15 d'échantillons et, d'autre part, par le volume des gouttes. Par ailleurs, la réalisation sur le pourtour des microcuvettes et dans les microcuvettes de zones hydrophiles par rapport au reste du support hydrophobe permet l'ancrage et le guidage de la goutte dans la  
20 microcuvette comme on peut le voir sur les figures 4A et 4B.

En se reportant à la figure 4A, on voit le dispositif conforme à ce premier mode réalisation de l'invention, qui comporte un support 21 muni de microcuvettes 23 avec les zones hydrophiles 24 et les zones hydrophobes 27.

Sur la figure 4A, on a représenté le dispositif dans le stade d'alimentation en gouttes 29 de réactif ou d'échantillon qui peuvent être déposés par un microdispenseur (robot de micropipettage) ou par des têtes d'impression à jet d'encre.

Comme on le voit sur la figure 4A, les gouttes ne sont pas forcément positionnées au droit de

l'ouverture des microcuvettes. Mais la présence des zones hydrophiles 24 et hydrophobes 27 permet l'ancrage et le guidage de la goutte dans la microcuvette. En effet, en raison des tensions superficielles créées par 5 l'hydrophilicité de la surface, la goutte déposée va pouvoir glisser pour se positionner et remplir parfaitement les microcuvettes comme représenté sur la figure 4B. Ainsi, pour une taille de goutte donnée, on peut réduire le pas des sites réactifs sur le support 10 sans risque de pontage entre les gouttes, donc de mixage des réactifs. Par ailleurs, même avec une précision de placement de gouttes imparfaite, on obtient une répartition spatiale parfaite donnée par la position des microcuvettes qui peut être extrêmement 15 précise par l'utilisation du micro-usinage, comme on le verra ci-après.

Avec ce dispositif, on note également que le rapport volume/surface au contact du réactif est augmenté pour une occupation au sol identique. Cela 20 veut dire que si le réactif contient des substances devant se fixer après séchage sur la zone hydrophile, il y en aura beaucoup plus.

Par ailleurs, ce type de structure peut être ajouté au-dessus d'un substrat actif, par exemple 25 une puce à ADN avec moyens de chauffage ou de lecture intégrés.

Enfin, cette structure du dispositif de l'invention est compatible avec les procédés de synthèse d'ADN *in situ* localisée. En effet, une fois 30 que la première base de la sonde est fixée dans les microcuvettes, la sonde peut être construite base après base dans ces microcuvettes.

Sur les figures 5 à 7, on a illustré l'intérêt d'utiliser un dispositif conforme au second mode de réalisation du dispositif de l'invention, pour la réalisation de puces à ADN.

Sur la figure 5, on voit l'une des microcuvettes du dispositif, qui comporte un support 51 muni de microcuvettes 53, avec présence d'un premier matériau hydrophile 55 et d'un second matériau hydrophile 57 dans les microcuvettes et sur leurs bords, et d'un matériau hydrophobe 59 entre les microcuvettes.

Sur cette figure, on a illustré les groupes hydrophiles 56 du premier matériau hydrophile, les groupes hydrophiles 58 du second matériau hydrophile et les groupes hydrophobes 60 du matériau hydrophobe. On remarque ainsi que les groupes hydrophiles 56 sont différents des groupes hydrophiles 58, les groupes hydrophiles 56 étant choisis pour fixer le réactif, par exemple les sondes nucléiques 63 présentes dans la goutte de réactif 65. La figure 5 correspond ainsi au stade d'alimentation en gouttes du dispositif.

Sur la figure 6, on a illustré la phase de recentrage de la goutte 65 sur les zones hydrophiles en raison de la répulsion des zones hydrophobes 59.

La figure 7 illustre l'étape de fixation des sondes nucléiques 63 sur le premier matériau hydrophile 55 par réaction des groupes hydrophiles 64 de la sonde avec les groupes hydrophiles 56 du premier matériau hydrophile 55.

A titre d'exemple, la sonde nucléotidique peut être fonctionnalisé avec un groupe OH et le premier matériau hydrophile 55 peut comporter des groupes hydrophiles OH tandis que le second matériau

hydrophile comporte des groupes hydrophiles COOH ou NH<sub>2</sub>. De cette façon, il n'y aura couplage avec la sonde que sur le premier matériau hydrophile 55.

Une technique de fixation de sondes 5 oligonucléotidiques sur des surfaces de verre préalablement modifiées par silanisation est décrite par Beattie et al dans Clin. Chem., vol. 39, n°4, 1993, pages 714-722 [3].

10 Ce mode de réalisation du dispositif de l'invention est particulièrement intéressant car lorsqu'on réduit le pas des microcuvettes, les sites recouverts par les différents réactifs deviennent très proches les uns des autres, ce qui pose un problème lors de la détection si on lit par fluorescence les 15 résultats. En permettant l'emploi de gouttes relativement volumineuses tout en conservant un espace suffisant entre sites à réactif, on simplifie la chaîne d'acquisition.

20 De plus, avec cette amélioration, on n'obtient du réactif que sur le fond des microcuvettes, ce qui permettra de situer l'endroit de la réaction chimique éventuelle sur un plan différent. Ceci est utilisable par un système de lecture pour s'affranchir 25 par exemple de la fluorescence parasite de la surface du support (focalisation différentielle).

Les microcuvettes décrites ci-dessus sont aptes à recevoir des gouttes dispensées mécaniquement. On a vu que deux avantages particuliers à l'invention doivent être pris en compte :

30 - pallier à la précision intrinsèque du dispenseur : la goutte même mal centrée « bascule» dans la microcuvette grâce à la zone hydrophile (26 ou 57) qui déborde sur la partie plane du substrat autour de

chaque cuvette.

- permettre à une quantité importante de réactifs contenue dans la goutte de se fixer dans la cuvette. On pourra déposer une goutte bien plus volumineuse que la 5 cuvette, elle sera centrée sur la cuvette grâce aux zones hydrophiles débordant de la cuvette. Ceci est très important car les réactifs contenus dans la goutte ne peuvent pas être trop concentrés sous peine d'avoir des problèmes à la dispense.

10 Au niveau topologie et à titre d'illustration deux types de cuvettes ont été réalisées, qui présentent les dimensions suivantes repérées sur la figure 2 :

1°) :

15 - Diamètre de cuvette en fond de trou D : 100 µm.  
- Profondeur de cuvette P : 30 µm  
- Zone débordante sur la partie plane de chaque côté L : 15 µm.  
- Pas : 180 µm.

20 2) :

- Diamètre de cuvette en fond de trou D : 70 µm.  
- Profondeur de cuvette P : 20 µm.  
- Zone débordante sur la partie plane de chaque côté L : 10 µm.  
- Pas : 140 µm.

25 Sur les figures 8A à 8E, on a illustré les différentes étapes de réalisation d'un dispositif conforme à l'invention, utilisant un seul matériau hydrophile et dans lequel on forme les zones 30 hydrophiles et hydrophobes par silanisation, le support étant en silicium.

Sur la figure 8A, on voit le support 21 en silicium de départ.

Sur la figure 8B, on a représenté l'étape de formation des microcuvettes 23 dans le support 21.

5 Ceci peut être effectué par lithographie et gravure chimique selon des plans cristallins. On obtient ainsi des microcuvettes tronconiques avec un flanc à 54° et un fond plat. Le pas des microcuvettes peut aller de 10 à 500 µm et leur profondeur peut être de 5 à 10 500 µm, ceci pour pouvoir s'adapter aux tailles de gouttes dispensées par les automates de dépôt de réactifs.

Après lithgravure des microcuvettes, on soumet l'ensemble à un traitement d'oxydation thermique 15 à une température supérieure à 800°C, par exemple à 850°C, pour disposer de groupements OH à la surface du silicium.

Sur la figure 8C, on a représenté l'étape de définition des zones de matériau hydrophobe au moyen 20 d'un masque. Ce masque peut être constitué par une résine photosensible R que l'on dépose sur le support, et que l'on soumet ensuite à une insolation selon le motif à obtenir suivie d'un développement pour mettre à nu les zones qui devront être hydrophobes. La résine R peut être n'importe quel photorésist utilisable en microélectronique. On peut utiliser en particulier la résine Shipley positive (S1813 ou STR1075), ou négative SAL 601 et le développeur Microposit MF 319.

Sur la figure 8D, on a représenté l'étape 30 de création des zones de matériau hydrophobe 27 par silanisation hydrophobe du support en silicium mis à nu au moyen de l'agent de silanisation par exemple le

tridécafluorotétrahydro-octyltriéthoxy-silane (appelé aussi F13).

Après création des zones de matériau hydrophobe 27, on élimine la résine R par dissolution 5 par exemple dans l'acétone pour mettre à nu les zones devant comporter le matériau hydrophile.

Sur la figure 8E, on a représenté la réalisation des zones de matériau hydrophile 24 par silanisation hydrophile au moyen de EDA,  $\gamma$ APS ou DETA.

10 Les figures 9A à 9D illustrent une variante de réalisation du dispositif de l'invention avec un support en silicium recouvert d'une métallisation en or, dans laquelle on utilise des thiols pour la création du matériau hydrophile et du 15 matériau hydrophobe. Dans ce cas, comme précédemment on réalise en creux dans le support en silicium 21 des microcuvettes tronconiques 23 par lithogravure chimique selon des plans cristallins, puis on dépose sur l'ensemble du support de l'or pour former une couche 20 ayant une épaisseur de 50 à 5000  $\text{\AA}$ .

La figure 9A représente le support 21 muni des microcuvettes 23 et revêtu d'une couche d'or M.

Après création des microcuvettes, on définit les zones de matériau hydrophobe par 25 lithographie au moyen d'une résine photosensible R comme décrit précédemment.

On obtient ainsi la structure représentée sur la figure 9B où la couche d'or M est mise à nu sur les zones qui devront être hydrophobes.

30 On forme ensuite le matériau hydrophobe par réaction du dépôt d'or mis à nu avec un thiol hydrophobe tel que l'octadécane thiol  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{17}-\text{SH}$ .

On obtient ainsi la structure représentée sur la figure 9C avec les zones de matériau hydrophobe 27. Après cette opération, on élimine comme précédemment la couche de résine R par dissolution dans l'acétone et on traite par un thiol hydrophile les zones dégagées. On peut utiliser comme thiol hydrophile  $\text{HO}(\text{CH}_2)_n\text{SH}$ ,  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{SH}$  ( $n = 3$  à 18).

On obtient ainsi la structure représentée sur la figure 9D, comportant les zones de matériau hydrophile 24 séparées par les zones de matériau hydrophobe 27.

Bien que dans les deux exemples décrits ci-dessus, on ait réalisé les matériaux hydrophobes et hydrophiles par un traitement de silanisation ou de modification au moyen d'un thiol, il va de soi que l'on pourrait combiner ces deux possibilités de modification de la surface du support en effectuant certaines zones par silanisation et d'autres zones par réaction du support avec un thiol ou par d'autres techniques d'hydrophilisation ou d'hydrophobisation.

Dans le cas où le support est un verre, on peut former les microcuvettes par une gravure isotropique sans angle et former ensuite les zones de matériau hydrophile et les zones de matériau hydrophobe par les procédés décrits ci-dessus. Dans le cas où on forme ces zones par silanisation, il n'est pas nécessaire de soumettre le support à une oxydation, après gravure des microcuvettes car le verre comporte les fonctions OH nécessaires pour les étapes suivantes. On peut aussi, dans le cas d'un substrat en verre, réaliser les zones de matériau hydrophile et de matériau hydrophobe après dépôt d'or par réaction avec un thiol et combiner ces procédés.

L'intérêt du substrat en verre est de permettre la réalisation des microcuvettes par une gravure isotropique, ce qui conduit à des microcuvettes sans angles facilitant ainsi les diverses opérations de 5 rinçage.

Comme on l'a vu précédemment, l'invention peut être également mise en oeuvre sur un support comportant un substrat actif avec électronique intégrée. Un tel substrat peut permettre un chauffage 10 localisé des sites ou une lecture par CCD d'un appariement réactif-électrolyte à analyser sur ces sites, ou un adressage de chaque site pour y appliquer une tension par exemple. Le substrat actif peut être réalisé en silicium ou en verre en utilisant les 15 techniques des écrans plats.

Dans ce cas, la structure de l'invention est construite au-dessus du substrat actif terminé en recouvrant celui-ci d'une couche d'oxyde minéral ou encore d'une couche de polymère, la couche déposée 20 étant suffisamment épaisse pour y former des microcuvettes de profondeur voulue.

Après réalisation des microcuvettes dans cette couche de polymère ou d'oxyde minéral, on peut définir les zones hydrophiles et hydrophobes comme 25 précédemment par réaction d'une couche d'or avec un thiol. Dans le cas d'une couche de polymère, les zones hydrophobes peuvent aussi être constituées par la couche de polymère.

Sur les figures 10A à 10C, on a illustré 30 les étapes de réalisation de ce dispositif.

Sur la figure 10A, on a représenté le substrat actif 21a muni de plots de surface 21b aux emplacements qui correspondent aux sites d'analyse.

Sur ce substrat 21a, on dépose tout d'abord une couche épaisse de polymères 21c, par exemple de polyimide ayant une épaisseur de 5 à 100  $\mu\text{m}$ , puis on creuse dans cette couche des microcuvettes 23 par exemple par lithogravure, moulage, ...

On dépose ensuite sur les zones du support qui devront être en matériau hydrophile une couche d'or M de façon à définir les zones hydrophiles.

Sur la figure 10B, on a représenté la structure obtenue qui comprend le substrat actif 21a, les plots de surface 21b, la couche de polymères 21c, les microcuvettes 23 et la couche d'or M.

Sur la figure 10C, on a représenté l'étape de formation des zones hydrophiles par traitement de l'ensemble par un thiol hydrophile qui va se fixer sur l'or M pour former les zones de matériau hydrophile 24.

Dans ce cas, il n'est pas nécessaire de réaliser des zones de matériau hydrophobe, celles-ci étant constituées par la couche de polymère 21c restant entre les microcuvettes 23.

Sur les figures 11A à 11G, on a illustré les différentes étapes du procédé de fabrication d'un dispositif conforme au second mode de réalisation de l'invention, comportant deux types de matériaux hydrophiles.

Dans ce cas, comme représenté sur la figure 11A, on part d'un support 51 par exemple en silicium, dans lequel on réalise des microcuvettes 53 de forme tronconique par lithogravure, comme dans le premier exemple de réalisation. On dépose ensuite sur l'ensemble une couche d'or M.

Sur la figure 11B, on a représenté la structure du support après dépôt d'une résine R sur les

endroits qui correspondent aux zones devant comporter le second matériau hydrophile.

Sur la figure 11C, on a représenté la structure obtenue après gravure de l'or pour retirer la 5 couche d'or sur les zones correspondant au matériau hydrophobe et sur les zones correspondant au premier matériau hydrophile, et après élimination de la résine R sur les zones correspondant au second matériau hydrophile.

10 Sur la figure 11D, on a représenté la structure obtenue après protection des fonds des microcuvettes par une de résine R identique ou différente de la première résine R. Cette protection peut être obtenue par les techniques lithographique en 15 déposant une résine photosensible insolée aux endroits voulus et éliminé ensuite sur les zones voulues.

Sur la figure 11E, on a représenté la 20 création des zones de matériau hydrophobe 59 qui sont formées par silanisation hydrophobe du support au moyen de Repel Silane.

Sur la figure 11F, on a représenté la 25 création des zones 57 du second matériau hydrophile par réaction de l'or avec un thiol hydrophile comportant des groupe COOH ou NH<sub>2</sub>, par exemple HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-SH.

Sur la figure 11G, on a représenté la structure finale obtenue après avoir éliminé la résine R du fond des microcuvettes et avoir soumis le support à un traitement de silanisation au moyen de OH(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>-SH.

30 Ainsi, avec le traitement de silanisation, on obtient un premier matériau hydrophile 55 comportant des groupes hydrophiles OH alors que les zones 57 du second matériau hydrophile comportent des groupes

hydrophiles COOH. Ainsi, en utilisant un réactif à groupes OH tel qu'un oligonucléotide, un linker ou un précurseur de synthèse nucléotidique, fonctionnalisé avec un groupe OH, on pourra fixer préférentiellement 5 ce réactif dans le fond des microcuvettes.

Bien entendu, dans l'exemple de réalisation décrit ci-dessus, l'ordre des étapes pourrait être différent. De même, on pourrait utiliser d'autres techniques pour créer respectivement les zones 57 et 10 55 du premier et du second matériau hydrophile, et supprimer l'étape de création des zones 59 de matériau hydrophobe dans le cas d'un support hydrophobe.

#### Références citées

15

- [1] : US-A-5 474 796.
- [2] : Eggers et al, A versatile biochip for gene-based diagnostics, 0-7803-3271-7/96, 1996, IEEE, p. 87-92.
- 20 [3] : Beattie et al dans Clin. Chem., vol. 39, n°4, 1993, pages 719-722.

## REVENDICATIONS

1. Dispositif d'analyse chimique ou biologique comprenant un support comportant une pluralité de sites d'analyse aptes à fixer un réactif chimique ou biologique, dans lequel les sites d'analyse sont constitués par des microcuvettes (23, 53) s'étendant en creux dans le support (21, 51), les parois latérales et le fond des microcuvettes et les zones de la surface du support entourant chaque microcuvette, dénommées bords de microcuvettes, étant réalisés en au moins un matériau hydrophile (24, 26, 55, 57), et les zones planes du support disposées entre les zones entourant les microcuvettes étant réalisées en un matériau hydrophobe (27, 59).

2. Dispositif selon la revendication 1, dans lequel les microcuvettes ont la forme d'un tronc de cône dont la petite base correspond au fond de la microcuvette.

3. Dispositif selon la revendication 1 ou 2, dans lequel les parois latérales, les fonds et les bords des microcuvettes sont réalisés en le même matériau hydrophile.

4. Dispositif selon la revendication 1 ou 2, dans lequel les fonds des microcuvettes sont réalisés en un premier matériau hydrophile (24, 55), et au moins une partie des parois latérales des microcuvettes ainsi que les bords des microcuvettes sont réalisés en un second matériau hydrophile (26, 57), seul le premier matériau hydrophile étant apte à fixer le réactif chimique ou biologique.

5. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le(s) matériau(x)

hydrophile(s) comportent des groupes hydrophiles choisis parmi les groupements époxy, -OH, -SH, -NH-, -NH<sub>2</sub> et -COOH.

6. Dispositif selon l'une quelconque des 5 revendications 1 à 4, dans lequel le matériau hydrophobe comprend des groupes hydrophobes choisis parmi les groupes hydrocarbonés et fluorocarbonés.

7. Dispositif selon les revendications 4 et 5, dans lequel le premier matériau hydrophile 10 comporte des groupes hydrophiles différents de ceux du second matériau hydrophile.

8. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans lequel le support comprend un substrat actif à système électronique intégré à 15 fonction électronique.

9. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans lequel le réactif biologique est un oligonucléotide.

10. Procédé de fabrication d'un dispositif 20 d'analyse chimique ou biologique selon la revendication 3, comprenant les étapes suivantes :

a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes,

b) définir les zones de la surface du support 25 devant comporter un matériau hydrophobe, et

c) former un matériau hydrophile sur les zones de la surface du support et des microcuvettes ne comportant pas de matériau hydrophobe.

11. Procédé de fabrication d'un dispositif 30 d'analyse chimique ou biologique selon la revendication 3, comprenant les étapes suivantes :

a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes, et

b) former un matériau hydrophile sur les zones de la surface du support devant comporter un matériau hydrophile.

12. Procédé de fabrication d'un dispositif 5 d'analyse chimique ou biologique selon la revendication 4, qui comprend les étapes suivantes :

a) réaliser en creux sur la surface du support des microcuvettes,

10 b) définir les zones de la surface du support devant comporter un matériau hydrophobe,

c) définir ensuite sur la surface du support ne comportant pas de matériau hydrophobe et sur la surface des microcuvettes, des premières zones correspondant aux emplacements du premier matériau hydrophile et des 15 secondes zones correspondant aux emplacements du second matériau hydrophile, et

e) former le premier matériau hydrophile sur les premières zones et le second matériau hydrophile sur les secondes zones.

20 13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 12 comprenant une étape complémentaire de formation d'un matériau hydrophobe sur les zones de la surface du support devant comporter un matériau hydrophobe.

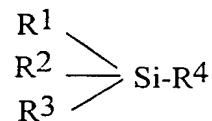
25 14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, dans lequel les microcuvettes sont réalisées par gravure.

30 15. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, dans lequel le support comprend une couche de surface en polymère ou en oxyde minéral déposée sur un substrat actif à fonction électronique, et les microcuvettes sont réalisées par gravure dans la couche de polymère ou d'oxyde.

16. Procédé selon la revendication 13, dans lequel le support étant en silicium ou en verre, on forme le matériau hydrophobe par réaction du verre ou du silicium soumis préalablement à une oxydation, avec 5 un agent de silanisation hydrophobe.

17. Procédé selon la revendication 16, dans lequel l'agent de silanisation hydrophobe est un silane de formule :

10

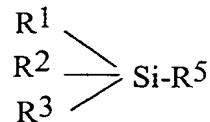


dans laquelle  $R^1$ ,  $R^2$  et  $R^3$  qui peuvent être identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes alcoxy en  $C_1$  à  $C_3$  et les atomes d'halogène, et  $R^4$  est un groupe 15 hydrocarboné ou fluorocarboné, linéaire ou ramifié.

18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, dans lequel le support étant en silicium ou en verre, on forme le matériau hydrophile par réaction du verre ou du silicium qui a été soumis 20 préalablement à une oxydation, avec un agent de silanisation hydrophile.

19. Procédé selon la revendication 18, dans lequel l'agent de silanisation hydrophile est un silane de formule :

25



dans laquelle  $R^1$ ,  $R^2$  et  $R^3$  qui peuvent être identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes alcoxy en  $C_1$  à  $C_3$  et les atomes d'halogène, et  $R^5$  est un groupe

hydrocarboné, linéaire ou ramifié, comportant au moins un groupe hydrophile choisi parmi les groupes époxy, -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>, -NH- et -COOH.

20. Procédé selon la revendication 13, dans lequel on forme le matériau hydrophobe par réaction d'une couche métallique en or, argent, cuivre ou un de leurs alliages, déposée sur les zones du support qui doivent être formées du matériau hydrophobe, par réaction de cette couche avec un thiol ou un disulfure comportant un groupe hydrocarboné ou fluorocarboné hydrophobe.

21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 13, dans lequel on forme le matériau hydrophile par réaction d'une couche métallique en or, argent, cuivre ou un de leurs alliages, déposée sur les zones du support qui doivent être formées du matériau hydrophile, par réaction de cette couche avec un thiol ou un disulfure comportant au moins un groupe hydrophile choisi parmi les groupes époxy, -OH, -SH, -NH-, -NH<sub>2</sub> et -COOH.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

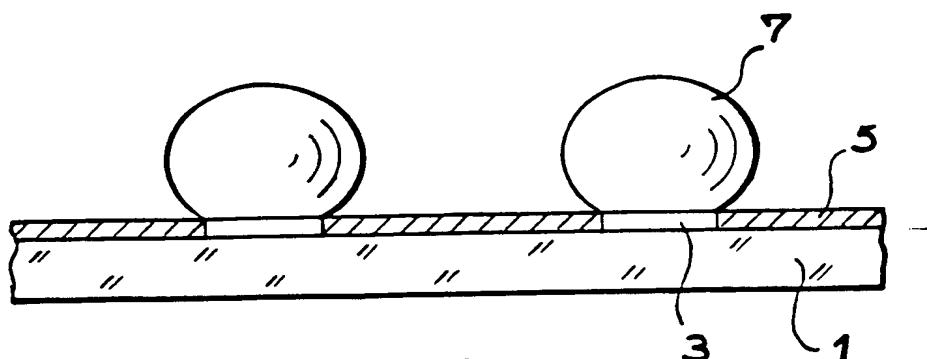


FIG. 1

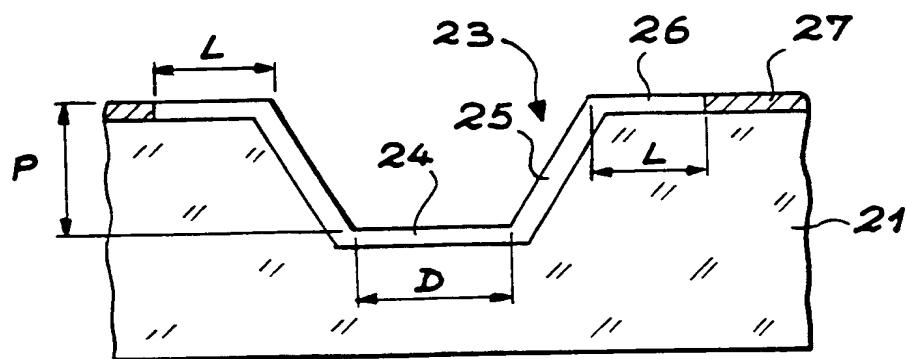


FIG. 2

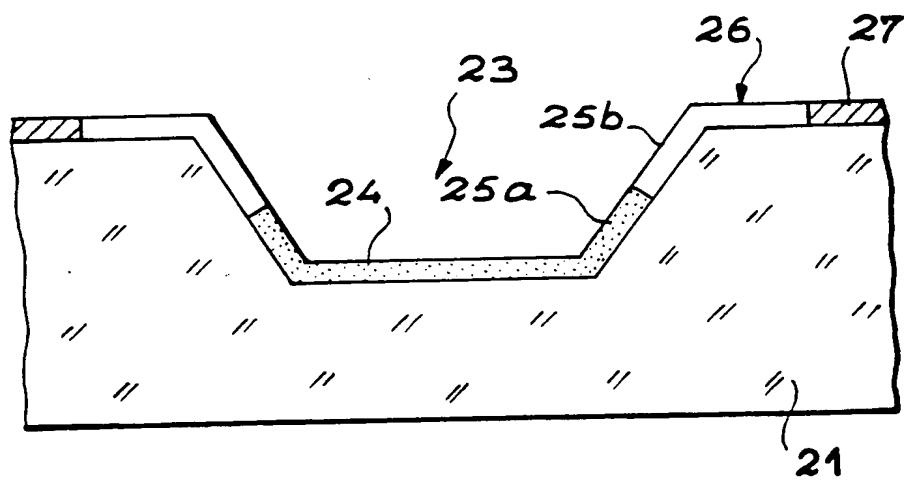


FIG. 3

THIS PAGE IS ANK (SECRET)

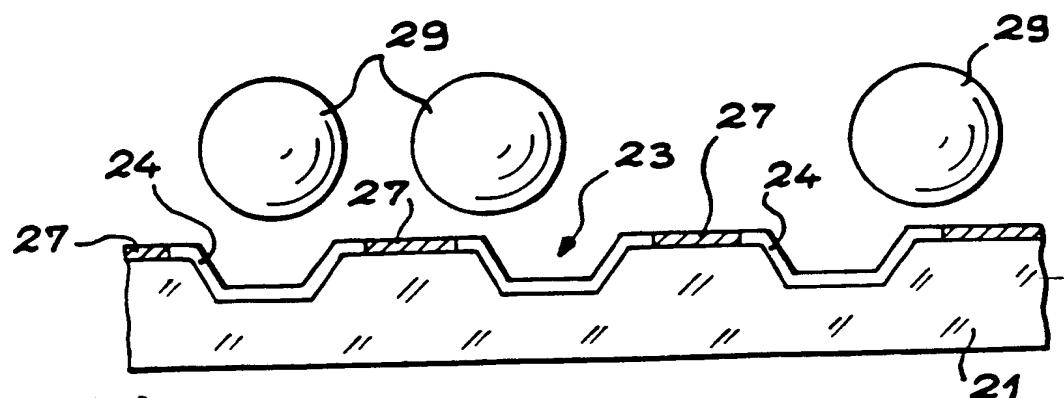


FIG. 4 A

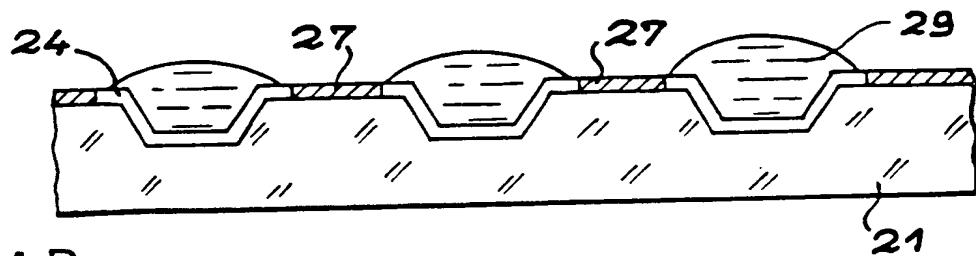


FIG. 4 B

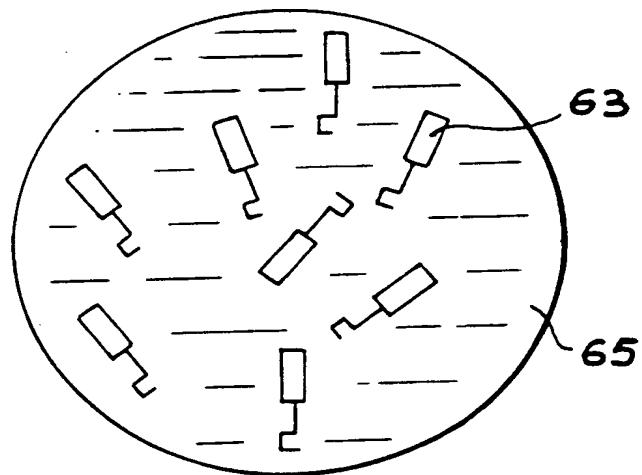
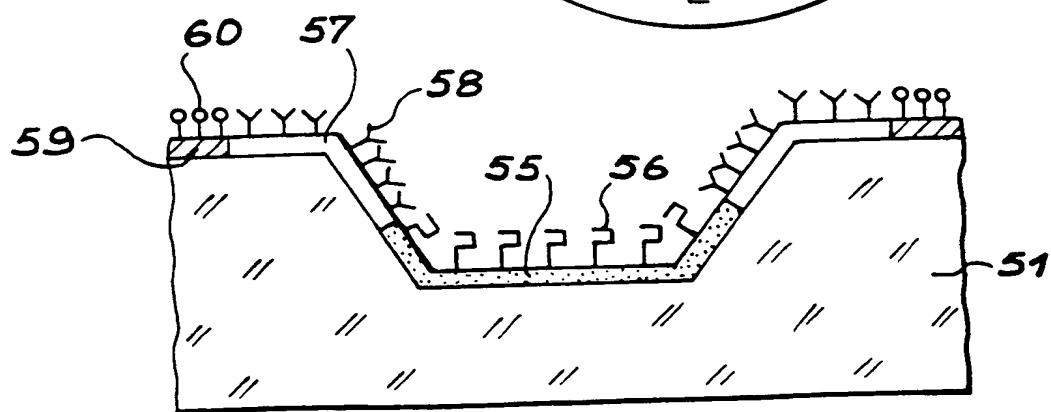


FIG. 5



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

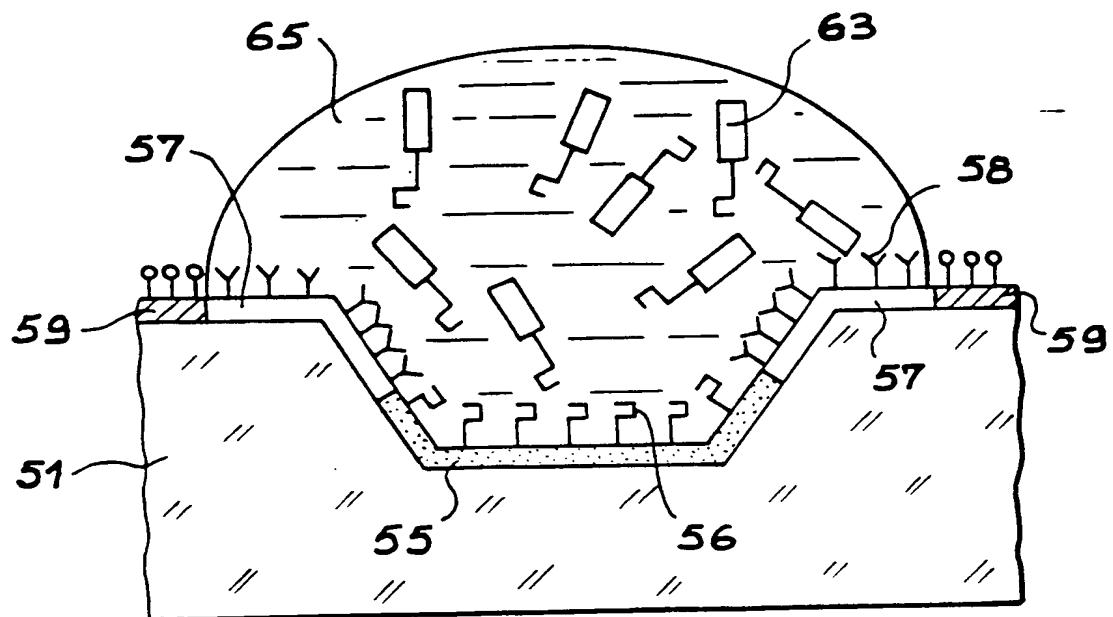


FIG. 6

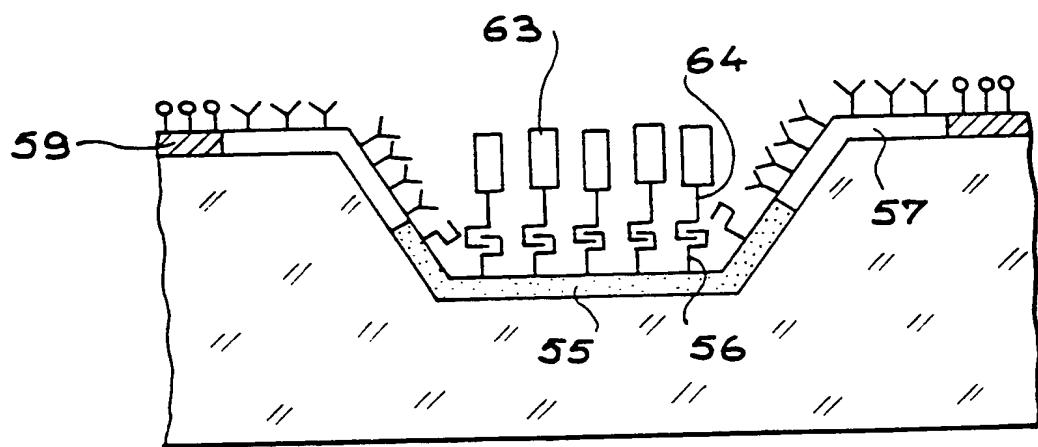


FIG. 7

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

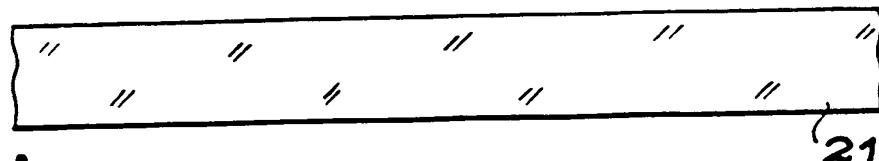


FIG. 8 A

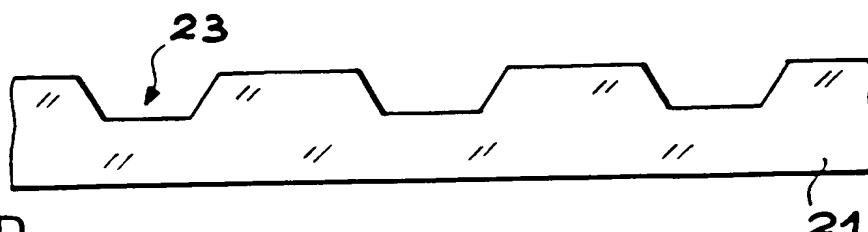


FIG. 8 B

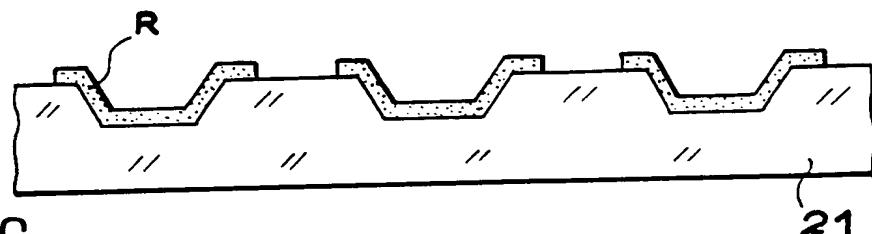


FIG. 8 C

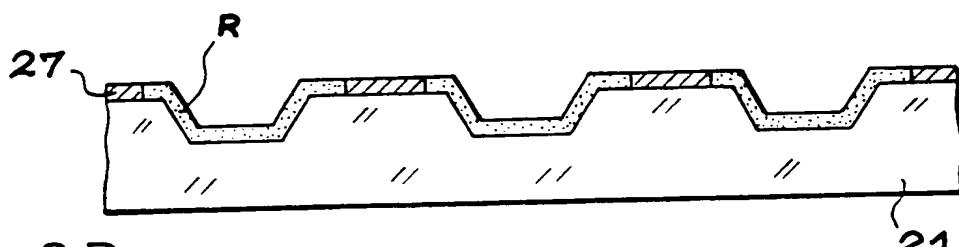


FIG. 8 D

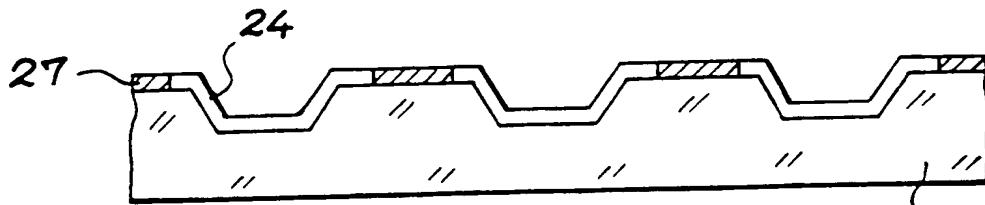
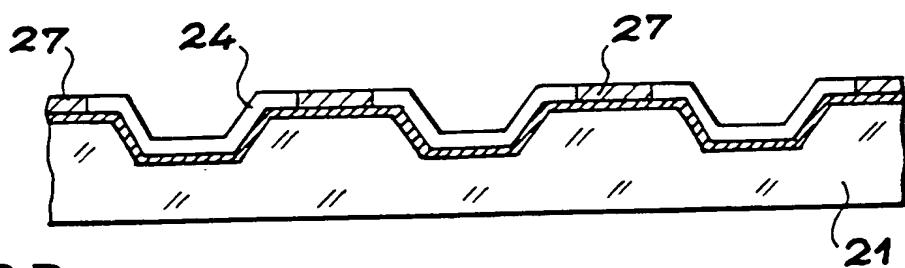
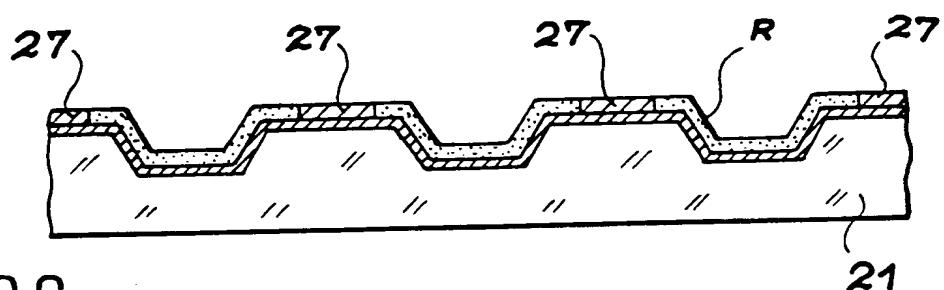
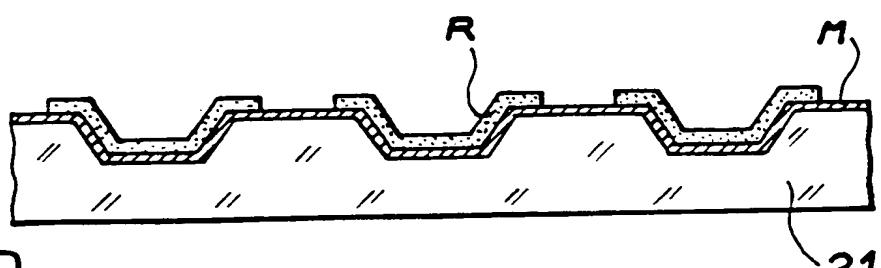
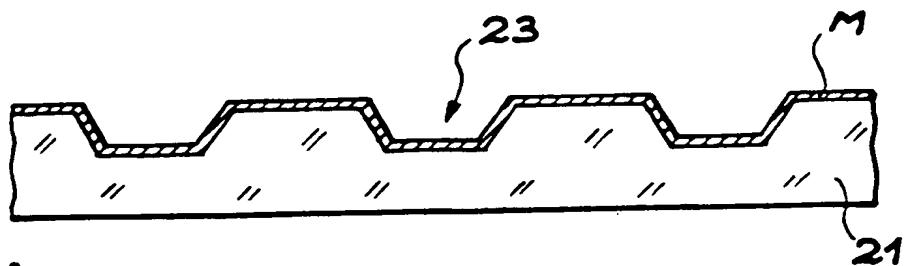


FIG. 8 E

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

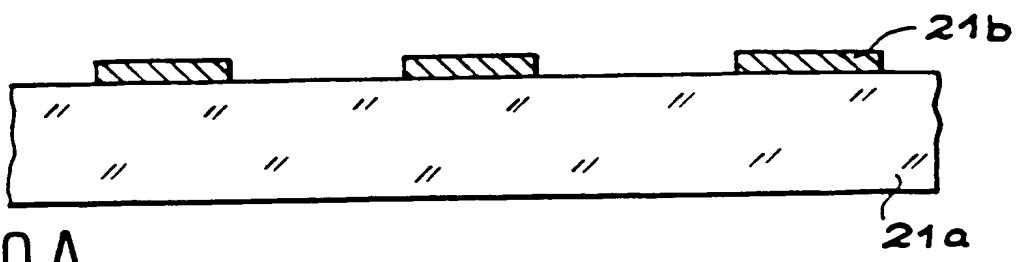


FIG. 10 A

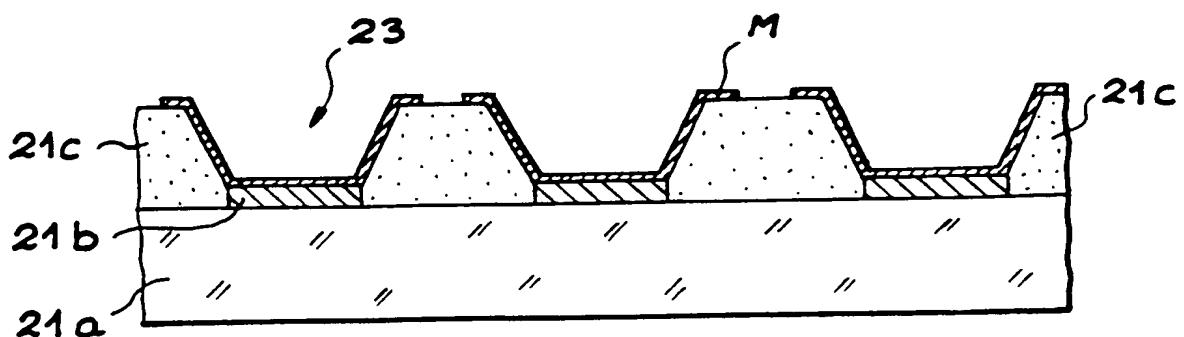


FIG. 10 B

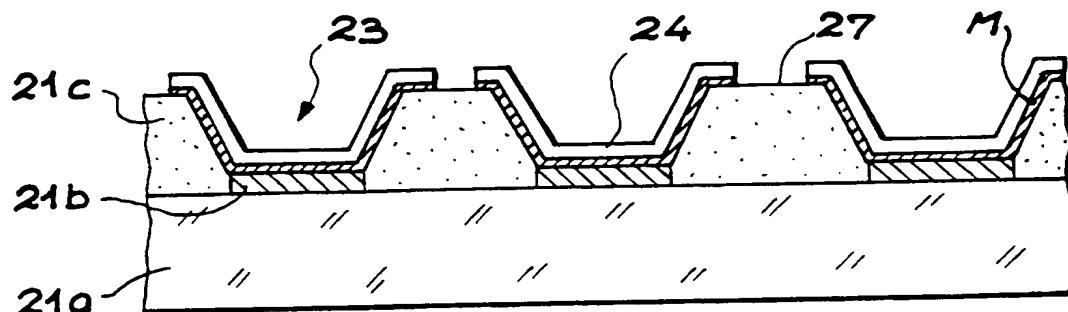


FIG. 10 C

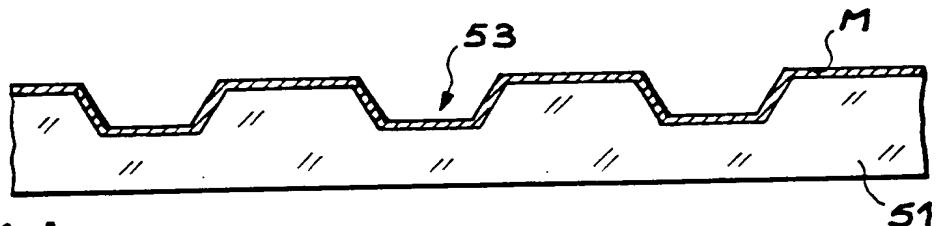


FIG. 11 A

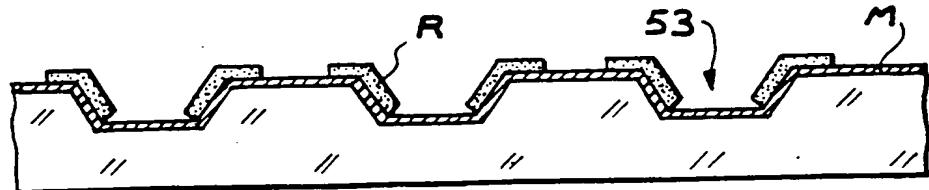


FIG. 11 B

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

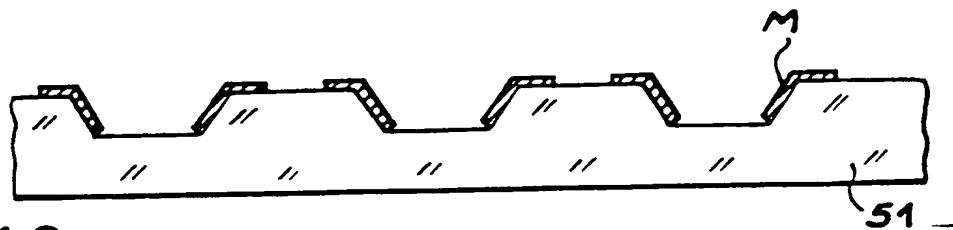


FIG. 11C

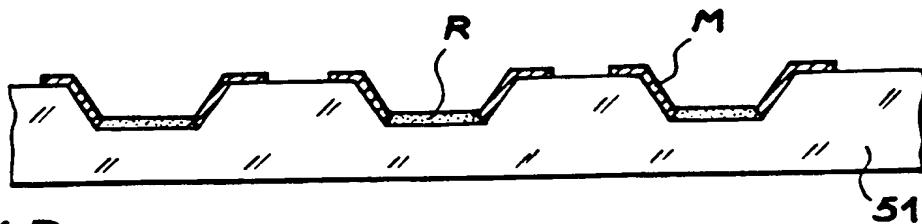


FIG. 11D

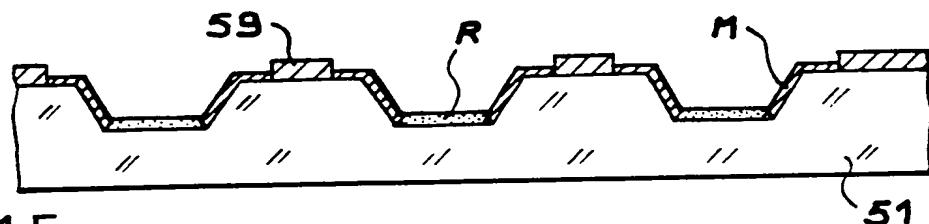


FIG. 11E

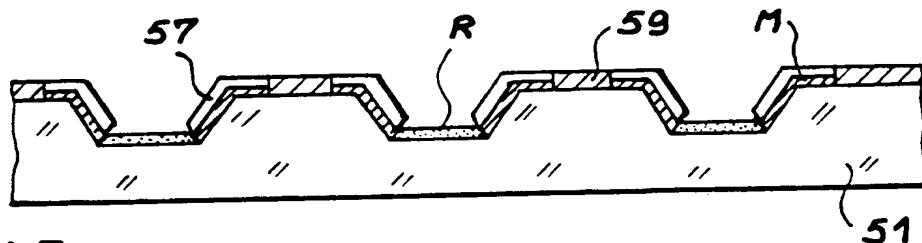


FIG. 11F

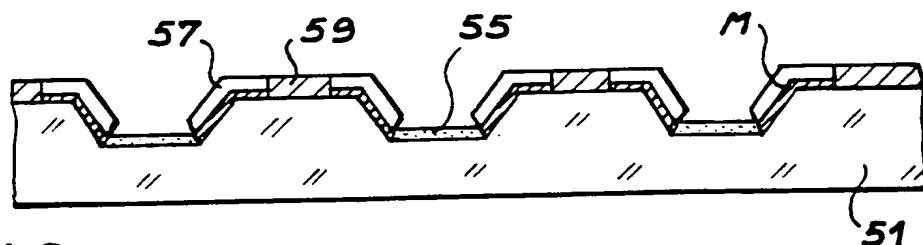


FIG. 11G

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No.  
PCT/FR 99/02191

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 G01N27/327 G01N33/543 C12Q1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G01N C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X        | US 5 474 796 A (BRENNAN THOMAS M)<br>12 December 1995 (1995-12-12)<br>cited in the application<br>the whole document<br>--- | 1,10-12               |
| X        | US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL)<br>5 August 1997 (1997-08-05)<br>the whole document<br>---                         | 1,10-12               |
| A        | WO 96 28538 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES<br>LLC) 19 September 1996 (1996-09-19)<br>examples<br>---                            | 1,10-12               |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 November 1999

Date of mailing of the international search report

25/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Moreno, C

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|                |                 |
|----------------|-----------------|
| Application No | PCT/FR 99/02191 |
|----------------|-----------------|

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| A        | JACKMAN R J ET AL: "FABRICATING LARGE ARRAYS OF MICROWELLS WITH ARBITRARY DIMENSIONS AND FILLING THEM USING DISCONTINUOUS DEWETTING"<br>ANALYTICAL CHEMISTRY,<br>vol. 70, no. 11, 1 June 1998 (1998-06-01),<br>pages 2280-2287, XP000766188<br>the whole document<br>----- | 1,10-12               |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

PCT/ISA/210 Application No  
99/02191

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) |   |            | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|---|------------|------------------|
| US 5474796                             | A 12-12-1995     | AT 156034               | T | 15-08-1997 |                  |
|  |                  | CA 2163781              | A | 08-12-1994 |                  |
|  |                  | DE 69404657             | D | 04-09-1997 |                  |
|  |                  | DE 69404657             | T | 18-12-1997 |                  |
|  |                  | EP 0703825              | A | 03-04-1996 |                  |
|  |                  | JP 9500568              | T | 21-01-1997 |                  |
|  |                  | WO 9427719              | A | 08-12-1994 |                  |
| US 5653939                             | A 05-08-1997     | US 5846708              | A | 08-12-1998 |                  |
|  |                  | EP 0638173              | A | 15-02-1995 |                  |
|  |                  | JP 7508831              | T | 28-09-1995 |                  |
|  |                  | WO 9322678              | A | 11-11-1993 |                  |
|  |                  | AT 176324               | T | 15-02-1999 |                  |
|  |                  | DE 69228291             | D | 11-03-1999 |                  |
|  |                  | DE 69228291             | T | 02-06-1999 |                  |
|  |                  | EP 0543550              | A | 26-05-1993 |                  |
|  |                  | JP 5322817              | A | 07-12-1993 |                  |
|  |                  | US 5532128              | A | 02-07-1996 |                  |
|  |                  | US 5670322              | A | 23-09-1997 |                  |
|  |                  | US 5891630              | A | 06-04-1998 |                  |
| WO 9628538                             | A 19-09-1996     | AU 5420596              | A | 02-10-1996 |                  |
|  |                  | BR 9607193              | A | 11-11-1997 |                  |
|  |                  | CA 2213854              | A | 19-09-1996 |                  |
|  |                  | CN 1186513              | A | 01-07-1998 |                  |
|  |                  | CZ 9702844              | A | 14-10-1998 |                  |
|  |                  | EP 0821726              | A | 04-02-1998 |                  |
|  |                  | HU 9801679              | A | 28-10-1998 |                  |
|  |                  | JP 11502617             | T | 02-03-1999 |                  |

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Recherche internationale No  
PCT/FR 99/02191

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 G01N27/327 G01N33/543 C12Q1/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 G01N C12Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents                             | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| X         | US 5 474 796 A (BRENNAN THOMAS M)<br>12 décembre 1995 (1995-12-12)<br>cité dans la demande<br>le document en entier<br>--- | 1,10-12                       |
| X         | US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL)<br>5 août 1997 (1997-08-05)<br>le document en entier<br>---                       | 1,10-12                       |
| A         | WO 96 28538 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES<br>LLC) 19 septembre 1996 (1996-09-19)<br>exemples<br>---                           | 1,10-12<br>-/-                |

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15 novembre 1999

25/11/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Moreno, C

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| International No<br>PCT/FR 99/02191 |  |
|-------------------------------------|--|

**C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents   | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| A         | <p>JACKMAN R J ET AL: "FABRICATING LARGE ARRAYS OF MICROWELLS WITH ARBITRARY DIMENSIONS AND FILLING THEM USING DISCONTINUOUS DEWETTING"<br/> ANALYTICAL CHEMISTRY,<br/> vol. 70, no. 11, 1 juin 1998 (1998-06-01),<br/> pages 2280-2287, XP000766188<br/> le document en entier</p> <p>-----</p> | 1,10-12                       |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Int'l. Search Report No.

PCT/FR 99/02191

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s)   | Date de<br>publication   |
|---|------------------------|---|--|
| US 5474796                                      | A 12-12-1995           | AT 156034 T<br>CA 2163781 A<br>DE 69404657 D<br>DE 69404657 T<br>EP 0703825 A<br>JP 9500568 T<br>WO 9427719 A   | 15-08-1997<br>08-12-1994<br>04-09-1997<br>18-12-1997<br>03-04-1996<br>21-01-1997<br>08-12-1994   |
| US 5653939                                      | A 05-08-1997           | US 5846708 A<br>EP 0638173 A<br>JP 7508831 T<br>WO 9322678 A<br>AT 176324 T<br>DE 69228291 D<br>DE 69228291 T<br>EP 0543550 A<br>JP 5322817 A<br>US 5532128 A<br>US 5670322 A<br>US 5891630 A | 08-12-1998<br>15-02-1995<br>28-09-1995<br>11-11-1993<br>15-02-1999<br>11-03-1999<br>02-06-1999<br>26-05-1993<br>07-12-1993<br>02-07-1996<br>23-09-1997<br>06-04-1998 |
| WO 9628538                                      | A 19-09-1996           | AU 5420596 A<br>BR 9607193 A<br>CA 2213854 A<br>CN 1186513 A<br>CZ 9702844 A<br>EP 0821726 A<br>HU 9801679 A<br>JP 11502617 T   | 02-10-1996<br>11-11-1997<br>19-09-1996<br>01-07-1998<br>14-10-1998<br>04-02-1998<br>28-10-1998<br>02-03-1999   |

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 31 OCT 2000

## RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

|   |  |  |
|---|--|--|
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire<br>B13134.3MDT  | <b>POUR SUITE A DONNER</b> voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416) |  |
| Demande internationale n°<br>PCT/FR99/02191   | Date du dépôt international (jour/mois/année)<br>15/09/1999  | Date de priorité (jour/mois/année)<br>16/09/1998 |
| Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB<br>G01N27/327  |  |  |
| Déposant<br>COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE et al.  |  |  |
| <p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent feuilles.</p>   |  |  |
| <p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priorité</li> <li>III <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</li> <li>IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités</li> <li>VII <input checked="" type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale</li> <li>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale</li> </ul> |  |  |

|  |   |
|--|---|
| Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale<br>02/03/2000  | Date d'achèvement du présent rapport<br>27.10.2000                                |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:<br>Office européen des brevets<br>D-80298 Munich<br>Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d<br>Fax: +49 89 2399 - 4465 | Fonctionnaire autorisé<br>Oechsner de Coninck<br>N° de téléphone +49 89 2399 2379 |



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR99/02191

## I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

**Description, pages:**

1-26 version initiale

### Revendications, N°:

1-21 version initiale

### Dessins, feuilles:

1/7-7/7 version initiale

## 2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- de la description, pages :
- des revendications, n°s :
- des dessins, feuilles :

3.  Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

#### 4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**RAPPORT D'EXAMEN  
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/02191

**V. Déclaration motivé selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**1. Déclaration**

|  |                           |
|--|---------------------------|
| Nouveauté                              | Oui : Revendications 1-21 |
|  | Non : Revendications      |
| Activité inventive                     | Oui : Revendications 1-21 |
|  | Non : Revendications      |
| Possibilité d'application industrielle | Oui : Revendications 1-21 |
|  | Non : Revendications      |

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**VII. Irrégularités dans la demande internationale**

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

**voir feuille séparée**

**VIII. Observations relatives à la demande internationale**

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

**voir feuille séparée**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Concernant le point V**

**Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

**V.1. Nouveauté (Art.33(2) PCT):**

Des dispositifs d'analyse chimique ou biologique comportant un support comprenant une pluralité de sites d'analyse aptes à fixer un réactif chimique ou biologique sont bien connus des documents D1-D3. De plus D2,D3 décrivent ces sites d'analyse comme étant constitués par des microcuvettes qui s'étendent en creux dans le support (voir, D2, Figs. 6H, 15,16,22, col.11, lignes 8-11; D3, p.2281, ligne 26, Figs.2-4).

Cependant, aucun de ces documents ne divulguent les caractéristiques suivantes:

- la présence d'une zone de la surface du support entourant chaque microcuvette (bord de microcuvette) étant constituée d'au moins un matériau hydrophile
- et les zones planes du support disposées entre les zones entourant les microcuvettes étant réalisées en un matériau hydrophobe.

L'objet de la revendication 1 ainsi que l'objet des revendications 10-12 est nouveau.

**V.2. Activité inventive (Art.33(3) PCT):**

Le problème objectif qui ressort de l'analyse des documents de l'art intérieur est décrit p. 3, 4ème §, p.4, 5ème §, de la présente description.

Au vu de ce problème, la personne du métier ne peut pas trouver la solution dans l'art antérieur, c-a-d, appliquer les caractéristiques citées ci-dessus qui diffèrent de la divulgation de D2,D3, puisqu'aucun des documents D1-D3 ne suggère que les bords des microcuvettes soient en matériau hydrophile.

L'objet des revendications 1 ainsi que 10-12 implique ainsi une activité inventive.

**Concernant le point VII****Irrégularités dans la demande internationale**

VII.1. Les caractéristiques figurant dans les revendications 10-12 ne comportent pas de

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

signes de référence mis entre parenthèses (règle 6.2 b) PCT).

VII.2. Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description devrait indiquer l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans D2 et ne cite pas ce document.

VII.3. Les revendications indépendantes ne sont pas présentées en deux parties comme prévu par la règle 6.3 b) PCT, alors qu'une telle présentation semblerait appropriée en l'espèce, les caractéristiques connues en combinaison de l'état de la technique (document D2 ou D3, voir description ci-dessus) figurant dans le préambule (règle 6.3 b) i) PCT) et les caractéristiques restantes figurant dans la partie caractérisante (règle 6.3 b) ii) PCT).

### **Concernant le point VIII**

#### **Observations relatives à la demande internationale**

VIII.1. Bien que les revendications 10-12 aient été rédigées sous forme de revendications indépendantes distinctes, elles ont le même objet et qu'elles ne diffèrent l'une de l'autre que par une variation dans la définition de l'objet pour lequel la protection est demandée. Par conséquent ces revendications ne sont pas concises. De plus, prises dans leur ensemble, elles sont dénuées de clarté, car du fait de la pluralité des revendications indépendantes, il est difficile, voire impossible de déterminer l'objet pour lequel une protection est demandée, et la délimitation par un tiers de l'étendue de la protection demandée nécessite des efforts excessifs.

Par conséquent, les revendications 10-12 ne satisfont pas aux conditions requises à l'article 6 PCT.

Afin d'échapper à cette objection, il semble approprié de déposer un jeu modifié de revendications définissant l'objet pertinent par une seule revendication indépendante dans chaque catégorie, dans le cas présent une revendication de dispositif et une revendication de procédé, suivie de revendications dépendantes couvrant des caractéristiques purement optionnelles (règle 6.4 PCT).

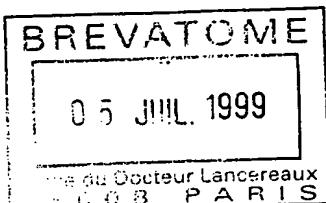
VIII.2. Les étapes de procédé b) et c) décrites par les revendications 10 et 12 et b) dans la revendication 11 sont vagues et laissent un doute quant à la définition des zones de la surface et des microcuvettes qui sont composées de matériau hydrophile et celles qui sont hydrophobe. A ce sujet, l'utilisation de l'expression "définir les zones"

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

est considérée ici comme trop générale. Or, il ressort clairement de la demande dans son ensemble que ces zones sont bien définies afin que l'effet technique présenté dans la description, p.4, lignes 15-24, puisse être réalisé. L'objet desdites revendications n'est donc pas clairement défini et ne contient pas toutes les caractéristiques essentielles pour l'invention (article 6 PCT).

VIII.3. Le dernier paragraphe titré "Références citées" de la présente description concernant la liste des références décrites auparavant est superflu et devrait être supprimé.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



BREVATOME

25 RUE DE PONTHIEU  
75008 PARIS

DEMANDE DE : BREVET  
N° : 9811561000 DU 16/09/98  
V/REF. : B13134MDT

DD 1829

PARIS, LE 02 JUILLET 1999

OBJET : NOTIFICATION D'UN RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE  
AVEC REPONSE OBLIGATOIRE

MESSIEURS,

J'ai l'honneur de vous adresser, en annexe, le rapport de recherche préliminaire établi conformément à l'article R.612-57 du code de la propriété intellectuelle, citant les documents qui peuvent être pris en considération pour apprécier la nouveauté et l'activité inventive de l'invention, objet de votre demande.

Selon l'article R.612-59 du code précité, vous disposez d'un délai de **3 mois** à compter de la date de réception de ce rapport de recherche préliminaire pour y répondre par écrit. Avant l'expiration de ce délai, celui-ci peut être renouvelé une fois sur votre requête.

Suivant la catégorie des documents cités, vous pouvez être tenu à une obligation de réponse (par exemple, si le rapport de recherche préliminaire mentionne des documents de catégorie **X ou Y**). Dans ce cas, un papillon **rouge** est apposé sur cette lettre et le défaut de réponse entraînera le rejet de la demande. Dans le cas contraire, ce papillon est **jaune**.

Dans tous les cas, il est de votre intérêt en élaborant votre réponse, de tenir compte de tous les documents cités.

Selon les articles R.612-58 et R.612-60 du code précité, votre réponse peut consister :

- soit en de nouvelles revendications (en 3 exemplaires). Dans ce cas, vous devez signaler les changements apportés aux revendications initiales. Vous pouvez y joindre des observations qui mettent en évidence les caractéristiques techniques de ces nouvelles revendications qui échappent à l'opposabilité des antériorités citées.

- soit seulement en des observations qui ont alors pour objet de discuter l'opposabilité des antériorités citées.

Veuillez agréer l'expression de ma considération distinguée.

Pour le Directeur général de l'Institut national  
de la propriété industrielle

*Le Chef du département des brevets*

Martin PLANCHE

SIEGE  
INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIETE  
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04

Télécopie : 01 42 93 59 30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Translation of Category of Cited Documents in the attached foreign language Search Report:

- X: particularly relevant if taken alone
- Y: particularly relevant if combined with another document of the same category
- A: relevant to at least one claim or as technological background
- O: non-written disclosure
- P: intermediate document
- T: theory or principle underlying the invention
- E: document entitled to a date prior to the filing date but which was not published until the filing date or a later date
- D: document cited in the application
- L: document cited for other reasons

---

- &: member of the same patent family, corresponding document

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE

N° d'enregistrement  
national

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

FA 563265  
FR 9811561

| DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS |  | Revendications<br>concernées<br>de la demande<br>examinée   |
|---------------------------------------|--|---|
| Catégorie                             | Citation du document avec indication, en cas de besoin,<br>des parties pertinentes   |   |
| D, X                                  | US 5 474 796 A (BRENNAN THOMAS M)<br>12 décembre 1995<br>* le document en entier *<br>---  | 1,10-12   |
| X                                     | US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL)<br>5 août 1997<br>* le document en entier *<br>---  | 1,10-12   |
| A                                     | WO 96 28538 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES<br>LLC) 19 septembre 1996<br>* exemples *<br>---  | 1,10-12   |
| A                                     | JACKMAN R J ET AL: "FABRICATING LARGE<br>ARRAYS OF MICROWELLS WITH ARBITRARY<br>DIMENSIONS AND FILLING THEM USING<br>DISCONTINUOUS DEWETTING"<br>ANALYTICAL CHEMISTRY,<br>vol. 70, no. 11, 1 juin 1998, pages<br>2280-2287, XP000766188<br>* le document en entier *<br>-----                            | 1,10-12   |
|                                       |  | DOMAINES TECHNIQUES<br>RECHERCHES (Int.CL.6)  |
|                                       |  | G01N<br>C12Q  |
| 1                                     | Date d'achèvement de la recherche<br>23 juin 1999  | Examinateur<br>Moreno, C  |
| EPO FORM 1503 03 82 (P04C13)          | CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES  | T : théorie ou principe à la base de l'invention<br>E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure<br>à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date<br>de dépôt ou qu'à une date postérieure.<br>D : cité dans la demande<br>L : cité pour d'autres raisons<br>& : membre de la même famille, document correspondant |
|                                       | X : particulièrement pertinent à lui seul<br>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un<br>autre document de la même catégorie<br>A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication<br>ou arrière-plan technologique général<br>O : divulgation non-écrite<br>P : document intercalaire |   |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO.

FA 563265  
FR 9811561

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets,  
ni de l'Administration française

23-06-1999

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s)   |  |  | Date de<br>publication   |
|---|------------------------|---|--|--|--|
| US 5474796 A                                    | 12-12-1995             | AT 156034 T<br>CA 2163781 A<br>DE 69404657 D<br>DE 69404657 T<br>EP 0703825 A<br>JP 9500568 T<br>WO 9427719 A   |  |  | 15-08-1997<br>08-12-1994<br>04-09-1997<br>18-12-1997<br>03-04-1996<br>21-01-1997<br>08-12-1994   |
| US 5653939 A                                    | 05-08-1997             | US 5846708 A<br>EP 0638173 A<br>JP 7508831 T<br>WO 9322678 A<br>AT 176324 T<br>DE 69228291 D<br>DE 69228291 T<br>EP 0543550 A<br>JP 5322817 A<br>US 5532128 A<br>US 5670322 A<br>US 5891630 A |  |  | 08-12-1998<br>15-02-1995<br>28-09-1995<br>11-11-1993<br>15-02-1999<br>11-03-1999<br>02-06-1999<br>26-05-1993<br>07-12-1993<br>02-07-1996<br>23-09-1997<br>06-04-1998 |
| WO 9628538 A                                    | 19-09-1996             | AU 5420596 A<br>BR 9607193 A<br>CA 2213854 A<br>CN 1186513 A<br>CZ 9702844 A<br>EP 0821726 A<br>HU 9801679 A<br>JP 11502617 T   |  |  | 02-10-1996<br>11-11-1997<br>19-09-1996<br>01-07-1998<br>14-10-1998<br>04-02-1998<br>28-10-1998<br>02-03-1999   |

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

3  
7  
09/18/5.972  
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

RECEIVED  
MAY 30 2001  
TC 1700

(PCT Article 36 and Rule 70)

|   |  |   |
|---|--|---|
| Applicant's or agent's file reference<br>B13134.3MDT  | FOR FURTHER ACTION   | See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) |
| International application No.<br>PCT/FR99/02191   | International filing date (day/month/year)<br>15 September 1999 (15.09.99) | Priority date (day/month/year)<br>16 September 1998 (16.09.98)                                      |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC<br>G01N 27/327 |  |   |
| Applicant<br>COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE  |  |   |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

|  |   |
|--|---|
| Date of submission of the demand<br>02 March 2000 (02.03.00) | Date of completion of this report<br>27 October 2000 (27.10.2000) |
| Name and mailing address of the IPEA/EP<br>Facsimile No.     | Authorized officer<br>Telephone No.                               |

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/FR99/02191

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

the international application as originally filed.

the description, pages 1-26, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

the claims, Nos. 1-21, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

the drawings, sheets/fig 1/7-7/7, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages \_\_\_\_\_

the claims, Nos. \_\_\_\_\_

the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/FR 99/02191

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

|                               |        |      |     |
|-------------------------------|--------|------|-----|
| Novelty (N)                   | Claims | 1-21 | YES |
|                               | Claims |      | NO  |
| Inventive step (IS)           | Claims | 1-21 | YES |
|                               | Claims |      | NO  |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-21 | YES |
|                               | Claims |      | NO  |

## 2. Citations and explanations

1. Novelty (PCT Article 33(2))

Chemical or biological analysis devices comprising a carrier with a plurality of analysis sites capable of binding a chemical or biological reagent are well known from documents D1 to D3. Furthermore, D2 and D3 state that the analysis sites consist of microwells in the carrier (see D2, figures 6H, 15, 16, 22, column 11, lines 8-11; D3, page 2281, line 26, figures 2-4).

However, none of these documents discloses the following features:

- a portion of the carrier surface around each microwell (microwell edge) is made of at least one hydrophilic material, and
- the planar portions of the carrier located between the portions surrounding the microwells are made of a hydrophobic material.

The subject matter of claim 1 and claims 10-12 is novel.

2. Inventive step (PCT Article 33(3))

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

|  |
|--|
| International application No.<br>PCT/FR 99/02191 |
|--|

The objective problem arising from the analysis of the prior art documents is described on page 3, fourth paragraph and page 4, fifth paragraph of the present description.

A person skilled in the art could not have found the solution to this problem in the prior art, said solution being the use of the above-mentioned features that differ from the disclosure of D2 and D3, since none of documents D1 to D3 suggests that the edges of the microwells be made of a hydrophilic material.

Therefore, the subject matter of claim 1 as well as 10-12 involves an inventive step.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. The features in claims 10-12 are not followed by reference signs placed between parentheses (PCT Rule 6.2(b)).
2. Contrary to the requirement of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not indicate the relevant prior art disclosed in document D2, and does not cite this document.
3. The independent claims have not been drafted in two parts, as required by PCT Rule 6.3(b), yet such a drafting would appear to be appropriate in this particular case, with a preamble containing the combination of features known from the prior art (document D2 or D3, see the discussion above) (PCT Rule 6.3(b)(i)), and a characterising part containing the remaining features (PCT Rule 6.3(b)(ii)).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Although claims 10-12 have been drafted as separate independent claims, it appears that they have the same subject matter and that they differ only by virtue of a variation in the definition of the subject matter for which protection is sought. Therefore, these claims are not concise. Moreover, taken as a whole, they are unclear, because the plurality of independent claims makes it difficult if not impossible to determine the subject matter for which protection is sought, and undue effort is required for a third party to determine the desired scope of protection.  
Therefore, claims 10-12 fail to comply with the requirements of PCT Article 6.  
To overcome this objection, it appears that an amended set of claims should be filed in which the relevant subject matter is defined in a single independent claim per category, in this case a device claim and a method claim, followed by dependent claims covering the entirely optional features (PCT Rule 6.4).
2. Method steps (b) and (c) described in claims 10 and 12 and (b) in claim 11 are vague and cast doubt on the definition of the portions of the surface and the microwells that are made of a hydrophilic material and those that are made of a hydrophobic material. In this connection, the use of the phrase "defining the portions" is considered to be too general in this case. However, it is clear from the application as a whole that said portions are indeed

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

|  |
|--|
| International application No.<br>PCT/FR 99/02191 |
|--|

**VIII. Certain observations on the international application**

defined in such a way that the technical effect referred to on page 4, lines 15-24 of the description can be achieved. Therefore, the subject matter of said claims has not been clearly defined and does not include all of the essential features of the invention (PCT Article 6).

3. The last paragraph of the present description headed "References cited" and relating to the list of references previously described is superfluous and should be deleted.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**